

## 竞争性内源 RNA 新模式: 环状 RNA

朱峰

200433 上海, 第二军医大学长海医院烧伤科, 烧创伤 ICU

通讯作者: 朱峰, Email: 18801780080@163.com

DOI: 10.3760/cma.j.issn.2095-4352.2016.05.018

**【摘要】** 环状 RNA (circRNA) 广泛存在于各种生物细胞中, 具有结构稳定、丰度高和组织特异性表达等特征。新近研究显示, circRNA 是竞争性内源 RNA (ceRNA) 的重要成员, 通过与靶微小 RNA (miRNA) 结合, 调控相关 RNA 的表达, 在基因调节和表达等方面发挥着重要功能。circRNA 不仅丰富了人们对真核生物和 ceRNA 调控作用网络的认识, 而且提示 circRNA 可作为疾病诊断的生物学新标志物, 在药物开发和疾病诊治中具有良好的应用前景。然而目前对于 circRNA 的研究还十分有限, 本文就 circRNA 的相关研究进行综述, 以供进一步研究。

**【关键词】** 环状 RNA; 竞争性内源 RNA; 微小 RNA; 非编码 RNA

**基金项目:** 国家自然科学基金 (81360292)

**New mode of competing endogenous RNA: circular RNA** Zhu Feng

Department of Burn Surgery and Intensive Care Unit of Burn and Trauma, Changhai Hospital, the Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

Corresponding author: Zhu Feng, Email: 18801780080@163.com

**【Abstract】** Circular RNA (circRNA) is widely found in various species' cells. They have several characteristics including structural stability, high expression and expression in a tissue-specific manner. Recent studies have demonstrated that circRNA is a member of competing endogenous RNA (ceRNA). CircRNA regulate the expression of related RNA molecules via binding with target microRNA (miRNA) and play an important role in gene expression and regulation. The finding of circRNAs not only expand our understanding about eucaryon and ceRNA regulation network, but also indicate that circRNA might be a new biological marker for diagnosis and has good application prospects in drug development research, and disease diagnosis and treatment. Because current research on circRNA is still very few, a brief summary about circRNA is presented in this paper for further research.

**【Key words】** Circular RNA; Competing endogenous RNA; MicroRNA; Non coding RNA

**Fund program:** National Natural Science Foundation of China (81360292)

环状 RNA (circRNA) 在 20 世纪 90 年代早期即被发现<sup>[1]</sup>, 但在很长一段时间里, circRNA 被认为是机体错误剪接形成的副产品或者一些病原体 (如病毒性肝炎和植物性类病毒) 的特异性基因工件 (artifacts), 属于一种小概率现象, 甚至被当做遗传意外或实验人为因素所致, 并未引起人们的重视<sup>[2-4]</sup>。然而随着研究的深入, 发现作为竞争性内源 RNA (ceRNA) 重要成员的 circRNA 不仅大量存在于哺乳动物细胞内, 而且在基因调节和表达等方面具有潜在功能, 在某些疾病的发生发展中也起到了重要作用<sup>[5-6]</sup>。现就 circRNA 的相关研究进行综述, 以供进一步研究。

### 1 circRNA 的形成机制

选择性剪接是生成成熟 RNA 的关键步骤。绝大部分时候, 其先切除内含子, 再选择性连接外显子, 形成线性 RNA。但是还有少部分前信使 RNA (mRNA) 中的外显子和内含子被非线性地反向剪接后形成 circRNA, 其主要有套索内含子、Y 结构内含子和内含子来源的环状 RNA (ciRNA)

3 种表现形式<sup>[7-9]</sup>。套索驱动的环化由外显子组成的剪接供体和剪接受体共价结合; Y 结构内含子是由 2 个内含子互补配对而形成的环状结构; ciRNA 则是由内含子自身环化而成<sup>[5]</sup>。

### 2 circRNA 的特征

根据形成的机制, circRNA 的主要特征有<sup>[10-13]</sup>: ① 绝大多数 circRNA 位于细胞质, 少部分可能存在于核酸内。② 序列高度保守, 极少数进化较快。③ 结构相对稳定, 较难被降解。④ 表达水平与线性 RNA 相当, 极少数超过它们的线性异构体。⑤ 外显子 circRNA 占绝对优势。⑥ 与对应的线性 RNA 具有相同的转录序列, 一些 circRNA 因为拥有微小 RNA 应答元件 (MRE), 充当了 ceRNA, 能与微小 RNA (miRNA) 相互作用, 调节功能, 这也是目前的研究重点。⑦ 大部分属于非编码 RNA (nncRNA)。⑧ 大多数 circRNA 在转录后水平发挥调控作用, 而少数则是在转录水平发挥调控作用。

### 3 circRNA-ceRNA 新模式

2011年Salmena等<sup>[14]</sup>首次提出了ceRNA的理论。他们认为,一个miRNA可以调控多个靶基因,相同的靶基因也可以被不同的miRNA调控。这些被同一miRNA调控的RNA之间就构成了一种竞争关系,称为ceRNA,如mRNA、长链非编码RNA(lncRNA)和一些假基因转录物等。如果具有相同的MRE,它们可以通过结合同一种miRNA而产生竞争性作用,即如果上述任何一种RNA的水平增多,其吸引miRNA的能力增强,则miRNA对其他RNA的抑制作用减弱,可引起其他RNA的蛋白质表达水平升高,从而影响细胞的功能。所以,ceRNA也可以被理解为具有相同MRE的RNA网络总称。

circRNA是一类持久而高效的ceRNA<sup>[10, 15-17]</sup>,具有下列特点:① circRNA位于细胞质中,结构稳定,不易被RNA酶和miRNA降解,可以稳定而持久地抑制miRNA的功能。② circRNA单个分子中即含有大量MRE,能够瞬间结合或释放大量的miRNA,加上其自身表达量多,因此可以高效发挥作用。③ 不受翻译活性干扰非编码的circRNA更适合作为ceRNA。④ 研究显示, circRNA可能具有储存和运输miRNA的功能<sup>[18]</sup>。

目前实验证实了circRNA作为体内ceRNA的作用是较为普遍的,为miRNA在细胞内的调控方式研究提供了新思路。例如,当小脑变性相关蛋白1反义转录物(CDR1as)高表达时, circRNA能大量结合miR-7,抑制miR-7的活性,导致miR-7靶标表达水平升高;而当CDR1as低表达时,它对miR-7活性的抑制作用降低,导致miR-7靶标表达水平降低<sup>[18]</sup>。Hansen等<sup>[12]</sup>则发现了一种转录自Y染色体性别决定区的circRNA,该circRNA上存在miR-138的16个MRE,可作为天然miRNA海绵抑制miR-138的活性。

### 4 circRNA的生物学作用

**4.1 充当miRNA海绵:** circRNA能竞争性抑制miRNA的转录调控,是一类新型的ceRNA调节物。在斑马鱼实验中发现, circRNA表达能损害中脑发育,与敲除miR-7效果一致<sup>[9]</sup>。通过高通量测序和生物信息学分析手段,研究者在哺乳动物转录组中发现了数以千计的circRNA,说明circRNA很有可能就是一类调控型ceRNA。更为重要的是,由于circRNA的高表达和稳定特性,它与其他线性ceRNA共同作用的过程中能显示出异常突出的ceRNA活性。

**4.2 ciRNA:** 来源于锚蛋白重复结构域52(ANKRD52)基因第二个内含子的ciRNA(ci-ankrd52)能够产生锚蛋白重复结构域<sup>[19]</sup>。有研究发现, ANKRD52对自身基因的表达具有一定的调节作用<sup>[8]</sup>。此外, ciRNA具有正调控RNA聚合酶II转录物活性的功能,从而对其parent基因发挥顺式调控作用<sup>[8]</sup>。ciRNA在细胞核的其他区域也有点状聚集,提示其还可能发挥反式调控作用<sup>[20]</sup>。

**4.3 转录调节:** 例如小鼠的Fmn基因对肢体的发育非常重要。通过含有Fmn编码序列上游剪接受体的反向剪接(backsplicing), Fmn基因转录产生外显子circRNA。基因敲

除这个剪接受体的小鼠体内无法检测到外显子circRNA,使Fmn蛋白畸形表达,但肢体仍能正常发育。研究者认为,外显子circRNA的形成起到mRNA陷阱(mRNA trap)的作用,通过隔离翻译起始点,留下一个非编码线性记录以达到降低Fmn蛋白表达的目的<sup>[21]</sup>。又如,肌营养不良蛋白(DMD)基因可以产生多个环化产物。有关抗肌萎缩蛋白病患者DMD外显子circRNA的研究显示,外显子circRNA的形成可导致在某种缺失突变个体中的DMD转录失活,并降低可翻译mRNA池中的mRNA数量<sup>[22]</sup>。

**4.4 其他:** circRNA还可能与RNA结合蛋白结合,或其他RNA碱基互补结合甚至结合RNA的翻译蛋白,从而影响基因的正常功能<sup>[23-24]</sup>。但上述生物学作用尚需进一步证实。

### 5 应用前景

作为ceRNA调控网络里的新晋成员, circRNA在基因表达调控中发挥重要作用,而且在疾病诊治中可能具有良好的应用前景。环状ANRIL(cANRIL)是长链非编码RNA ANRIL的环状拼接形式,其在人类细胞中的表达与该位点上几个可能影响ANRIL拼接的单核苷酸多态性SNP有关,能调节抑周期蛋白依赖性激酶4抑制因子/选择性读码框蛋白(INK4/ARF)的水平并增加动脉粥样硬化的风险。该研究充分证明circRNA与疾病的发生存在关联,并能很好地作为疾病诊断的新型生物标志物<sup>[25]</sup>。

circRNA ciRS-7在人脑组织中表达丰富,与脑特异性miR-7相互作用;而ciRS-7含有多个串联的miR-7结合位点,因此可以作为内源性的miRNA海绵,抑制miR-7活性。考虑miR-7是各种癌症相关通路的重要调节因子,同时也能直接调节 $\alpha$ -突触核蛋白和泛素蛋白连接酶A(UBE2A)的表达而可能与帕金森和阿尔茨海默疾病的发生相关,所以ciRS-7也很有可能作为神经系统疾病、脑发育、细胞增殖和癌症发生的重要调节因子<sup>[18]</sup>。

上述外显子circRNA所起到的mRNA陷阱作用说明外显子circRNA具有增强疾病表观的作用。剪接调控已然是这些营养不良性疾病的新治疗目标,例如,临床正在进行一项对抗某一外显子的反义寡核苷酸(跳开外显子并重建开放阅读框)的试验<sup>[23]</sup>。

近来,国内学者们也逐渐开始关注circRNA的生物学特征以及circRNA与某些疾病的关系<sup>[26-27]</sup>,相信在不久的将来会有更大的突破。

综上所述, circRNA是RNA家族中又一颗冉冉升起的新星,是ceRNA的新模式,在基因调控过程中发挥着重要的作用。随着对circRNA研究的深入,不仅使人们对真核生物调控作用网络的认识提高到一个新的水平,而且circRNA作为疾病诊断的生物学新标志物,可能成为药物治疗的靶点。因此相信对circRNA的研究势必进入一个“全盛期”。

### 参考文献

- [1] Nigro JM, Cho KR, Fearon ER, et al. Scrambled exons [J]. Cell, 1991, 64 (3): 607-613. DOI: 10.1016/0092-8674(91)90244-S.
- [2] Cocquerelle C, Mascrez B, Hétiuin D, et al. Mis-splicing yields circular RNA molecules [J]. FASEB J, 1993, 7 (1): 155-160.

- [ 3 ] Kos A, Dijkema R, Arnberg AC, et al. The hepatitis delta (delta) virus possesses a circular RNA [J]. *Nature*, 1986, 323 (6088): 558–560. DOI: 10.1038/323558a0.
- [ 4 ] Sanger HL, Klotz G, Riesner D, et al. Viroids are single-stranded covalently closed circular RNA molecules existing as highly base-paired rod-like structures [J]. *Proc Natl Acad Sci U S A*, 1976, 73 (11): 3852–3856. DOI: 10.1073/pnas.73.11.3852.
- [ 5 ] 李培飞, 陈声灿, 邵永富, 等. 环状 RNA 的生物学功能及其在疾病发生中的作用 [J]. *生物物理学报*, 2014, 30 (1): 15–23. DOI: 10.3724/SP.J.1260.2014.30171.  
Li PF, Chen SC, Shao YF, et al. Biological function of circRNAs and its role in the occurrence of disease [J]. *Acta Biophys Sin*, 2014, 30 (1): 15–23. DOI: 10.3724/SP.J.1260.2014.30171.
- [ 6 ] Vicens Q, Westhof E. Biogenesis of Circular RNAs [J]. *Cell*, 2014, 159 (1): 13–14. DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.005.
- [ 7 ] Danan M, Schwartz S, Edelheit S, et al. Transcriptome-wide discovery of circular RNAs in Archaea [J]. *Nucleic Acids Res*, 2012, 40 (7): 3131–3142. DOI: 10.1093/nar/gkr1009.
- [ 8 ] Zhang Y, Zhang XO, Chen T, et al. Circular intronic long noncoding RNAs [J]. *Mol Cell*, 2013, 51 (6): 792–806. DOI: 10.1016/j.molcel.2013.08.017.
- [ 9 ] Memczak S, Jens M, Elefantioti A, et al. Circular RNAs are a large class of animal RNAs with regulatory potency [J]. *Nature*, 2013, 495 (7441): 333–338. DOI: 10.1038/nature11928.
- [ 10 ] Salzman J, Gawad C, Wang PL, et al. Circular RNAs are the predominant transcript isoform from hundreds of human genes in diverse cell types [J]. *PLoS One*, 2012, 7 (2): e30733. DOI: 10.1371/journal.pone.0030733.
- [ 11 ] Jeck WR, Sorrentino JA, Wang K, et al. Circular RNAs are abundant, conserved, and associated with ALU repeats [J]. *RNA*, 2013, 19 (2): 141–157. DOI: 10.1261/rna.035667.112.
- [ 12 ] Hansen TB, Jensen TI, Clausen BH, et al. Natural RNA circles function as efficient microRNA sponges [J]. *Nature*, 2013, 495 (7441): 384–388. DOI: 10.1038/nature11993.
- [ 13 ] Zhang XO, Wang HB, Zhang Y, et al. Complementary sequence-mediated exon circularization [J]. *Cell*, 2014, 159 (1): 134–147. DOI: 10.1016/j.cell.2014.09.001.
- [ 14 ] Salmena L, Poliseno L, Tay Y, et al. A ceRNA hypothesis: the Rosetta Stone of a hidden RNA language? [J]. *Cell*, 2011, 146 (3): 353–358. DOI: 10.1016/j.cell.2011.07.014.
- [ 15 ] 夏天, 蒋孝明, 陈晓敏, 等. 环状 RNA: 竞争性内源 RNA 新成员 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2013, 35(11): 1695–1700. DOI: 10.11844/cjcb.2013.11.0226.  
Xia T, Jiang XM, Chen XM, et al. Circular RNA: a new member of competing endogenous RNAs [J]. *Chin J Cell Biol*, 2013, 35(11): 1695–1700. DOI: 10.11844/cjcb.2013.11.0226.
- [ 16 ] Sumazin P, Yang X, Chiu HS, et al. An extensive microRNA-mediated network of RNA-RNA interactions regulates established oncogenic pathways in glioblastoma [J]. *Cell*, 2011, 147 (2): 370–381. DOI: 10.1016/j.cell.2011.09.041.
- [ 17 ] Taulli R, Loretelli C, Pandolfi PP. From pseudo-ceRNAs to circ-ceRNAs: a tale of cross-talk and competition [J]. *Nat Struct Mol Biol*, 2013, 20 (5): 541–543. DOI: 10.1038/nsmb.2580.
- [ 18 ] Hansen TB, Wiklund ED, Bramsen JB, et al. miRNA-dependent gene silencing involving Ago2-mediated cleavage of a circular antisense RNA [J]. *EMBO J*, 2011, 30 (21): 4414–4422. DOI: 10.1038/emboj.2011.359.
- [ 19 ] Stefansson B, Ohama T, Daugherty AE, et al. Protein phosphatase 6 regulatory subunits composed of ankyrin repeat domains [J]. *Biochemistry*, 2008, 47 (5): 1442–1451. DOI: 10.1021/bi7022877.
- [ 20 ] Lasda E, Parker R. Circular RNAs: diversity of form and function [J]. *RNA*, 2014, 20 (12): 1829–1842. DOI: 10.1261/ma.047126.114.
- [ 21 ] Chao CW, Chan DC, Kuo A, et al. The mouse formin (Fmn) gene: abundant circular RNA transcripts and gene-targeted deletion analysis [J]. *Mol Med*, 1998, 4 (9): 614–628.
- [ 22 ] Surono A, Takeshima Y, Wibawa T, et al. Circular dystrophin RNAs consisting of exons that were skipped by alternative splicing [J]. *Hum Mol Genet*, 1999, 8 (3): 493–500. DOI: 10.1093/hmg/8.3.493.
- [ 23 ] Tay Y, Rinn J, Pandolfi PP. The multilayered complexity of ceRNA crosstalk and competition [J]. *Nature*, 2014, 505 (7483): 344–352. DOI: 10.1038/nature12986.
- [ 24 ] Wilusz JE, Sharp PA. Molecular biology. A circuitous route to noncoding RNA [J]. *Science*, 2013, 340 (6131): 440–441. DOI: 10.1126/science.1238522.
- [ 25 ] Burd CE, Jeck WR, Liu Y, et al. Expression of linear and novel circular forms of an INK4/ARF-associated non-coding RNA correlates with atherosclerosis risk [J]. *PLoS Genet*, 2010, 6 (12): e1001233. DOI: 10.1371/journal.pgen.1001233.
- [ 26 ] 夏世金, 邵先桃, 李炳, 等. 低氧性肺动脉高压小鼠肺的环状 RNA 表达谱研究 [J]. *中华肺部疾病杂志(电子版)*, 2015, 8 (1): 34–38. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6902.2015.01.009.  
Xia SJ, Tai XT, Li B, et al. Study of circular RNA expression profile of lungs in the mice with hypoxia-induced pulmonary hypertension [J]. *Chin J Lung Dis (Electron Ed)*, 2015, 8 (1): 34–38. DOI: 10.3877/cma.j.issn.1674-6902.2015.01.009.
- [ 27 ] 董瑞, 陈玲玲, 杨力. 后基因组时代的环形 RNA 研究 [J]. *中国细胞生物学学报*, 2014, 36 (11): 1455–1459. DOI: 10.11844/cjcb.2014.11.9001.  
Dong R, Chen LL, Yang L. Research of CircRNAs in postgenomic era [J]. *Chin J Cell Biol*, 2014, 36 (11): 1455–1459. DOI: 10.11844/cjcb.2014.11.9001.

(收稿日期: 2016-03-14)

(本文编辑: 保健媛, 李银平)

## • 科研新闻速递 •

## 脓毒症患者中性粒细胞形态学、细胞力学及细胞运动的改变

已有大量研究表明,脓毒症患者体内的中性粒细胞在形态学(大小、形状、组成)、细胞力学(变形)及细胞运动(细胞趋化及迁移)方面会发生明显的变化。最近荷兰学者对以往文献进行了回顾分析,旨在了解脓毒症患者中性粒细胞在形态学、细胞力学及细胞运动方面的变化。结果发现,脓毒症会导致血液中中性粒细胞数量增多、体积变大、细胞间隙减小、迁移及趋化能力下降。研究人员认为,对上述指标进行综合分析可使医护人员对脓毒症患者体内中性粒细胞表型的变化有更全面的认识,而床边微流控设备则可为临床提供更简捷、高通量及更经济的检测手段。因此,研究人员建议将中性粒细胞的形态学、细胞力学及细胞运动方面的参数进行整合分析,有望作为脓毒症的诊断、预测及监测的辅助手段。

罗红敏, 编译自《Crit Care Med》, 2016, 44(1): 218–228